



Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

6º Ano do Mestrado Integrado de Medicina

# Diabetes Mellitus e Osteoporose

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina

Artigo de Revisão Bibliográfica

**Tiago André Ferreira Sanches nº12529**

Orientador: Dra. Sónia do Vale, Assistente Hospitalar

Serviço de Endocrinologia

Lisboa, Abril de 2014



## RESUMO

Este artigo de revisão tem como tema “Diabetes Mellitus e Osteoporose” focando-se na relação entre estas patologias, quer a Osteoporose secundária à Diabetes Mellitus, quer a Osteoporose e Diabetes como co-morbilidades que potenciam o risco de fractura, percebendo os mecanismos biológicos que as influenciam. Apesar das alterações metabólicas causadas pela diabetes serem potenciais factores que afectam o metabolismo, estrutura e densidade mineral ósseas, o seu contributo para o aumento do risco de fractura verificado em indivíduos com Diabetes Mellitus tipo 1 e Diabetes Mellitus tipo 2 é ainda alvo de discussão. Foi efectuada uma pesquisa da literatura publicada na base de dados da PubMed essencialmente nos últimos 6/7 anos que englobasse a Diabetes e a Osteoporose, com realce no metabolismo ósseo, não esquecendo o risco de fractura. Foram também revistas e apreciadas as “guidelines” baseadas na evidência, publicadas por diversas organizações internacionais.

São focados os aspectos característicos da Diabetes Mellitus tipo 2, mas algumas especificidades da Diabetes Mellitus tipo 1 são também abordadas para uma compreensão mais completa desta patologia.

Palavras chave: *diabetes mellitus, osteoporose, risco de fractura*

## ABSTRACT

This review is entitled “Diabetes Mellitus and Osteoporosis” and it focus the relationship between both pathologies, either Diabetes Mellitus secondary Osteoporosis, as well as Osteoporosis and Diabetes as comorbidities that lead to an increase in fracture risk, regarding the biological mechanisms that influence one and the other. Although diabetic metabolic changes are potential factors that influence bone metabolism and structure, as well as bone mineral density, their contribution to the fracture risk increment verified in individuals with both diabetes mellitus type 1 an type 2 is still subject of debate. A search has been made on the PubMed database, essentially literature written in the last 6/7 years that included Diabetes and Osteoporosis, with emphasis on bone metabolism but not leaving out fracture risk assessment. Additionally, the evidence based guidelines published by several international organizations had been appreciated too.

The characteristic aspects of Diabetes Mellitus type 2 are focused, but some specifications of Diabetes Mellitus type 1 are also taken in consideration for the holisic comprehension of this pathology.

Keywords: *diabetes melitus, osteoporosis, fracture risk*

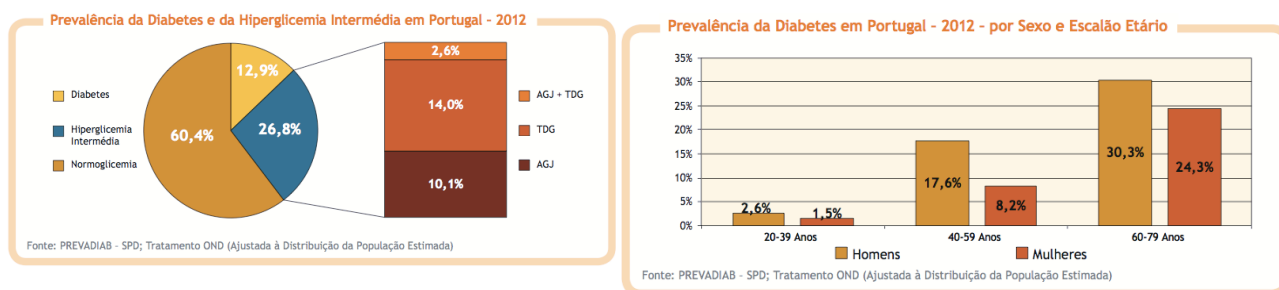
## INTRODUÇÃO

O número de doentes com Diabetes Mellitus e Osteoporose tem vindo a subir, especialmente devido ao envelhecimento populacional causado pelo aumento na esperança média de vida, sendo que a Osteoporose é a patologia metabólica óssea mais frequente. Ambas as patologias predispõem sobretudo as populações mais idosas a uma grande morbilidade e a um risco de mortalidade acrescido. A Diabetes é muito mais do que um estado de hiperglicémia que conduz a complicações vasculares e a Osteoporose não se traduz apenas por aumento do risco fracturário medido por densitometria óssea. Apesar de serem ainda entendidas como entidades separadas, existem evidências crescentes quanto aos mecanismos fisiopatológicos que as interligam, sendo controverso se existe uma associação entre as duas.

No entanto, é consensual que a diabetes que surge na adolescência resulta mais tarde em défice do pico de massa óssea, não se verificando aparente redução da densidade mineral óssea na diabetes tipo 2 típica de idades mais avançadas, muito pelo contrário. Contudo, ambas as situações predispõem a aumento do risco de fractura, sendo que na diabetes tipo 2 se encontram frequentemente associadas muitas outras comorbilidades que potenciam o risco de queda com fracturas associada. Deste modo, este e outros factores como a terapêutica antidiabética são exemplo dos múltiplos entraves ao estabelecimento de uma relação de causa-efeito entre as duas entidades.

## DIABETES MELLITUS E OSTEOPOROSE

A Diabetes corresponde a um conjunto de patologias crónicas caracterizadas por hiperglicémia, consequência da diminuição da secreção de insulina e/ou da sua acção. Tem uma prevalência mundial estimada de 8,3% (347M), sendo que 46% destes diabéticos se encontrarão por diagnosticar. Os dados de 2012 apontam para que 12,9% dos Portugueses (20-79anos) sofram desta doença, sendo mais prevalente com o aumento da idade, no sexo masculino, e conferindo a obesidade um risco 3x superior de desenvolver a doença. Verifica-se um aumento progressivo de diagnósticos na ultima década, sendo que se registaram 110 373 novos casos só em 2012 (CSP).[1] A pré-diabetes (AGJ/TDG) atinge 26,8% da população portuguesa, e apesar de não ser inevitável, aproximadamente 25% destes irão desenvolver Diabetes Mellitus.[2] Dados epidemiológicos apontam ainda para que 9 em 10 casos de DM2 sejam atribuíveis a hábitos e comportamentos passíveis de modificar.[3]



São considerados critérios de diagnóstico da DM2: a) Glicémia de jejum  $\geq 126$  mg/dl; ou b) Sintomas clássicos de descompensação + Glicémia ocasional  $\geq 200$  mg/dl; ou c) Glicémia  $\geq 200$  mg/dl às 2 horas, na PTGO com 75g de glicose; ou d) HbA1c  $\geq 6,5$  %.[4]

Os dados referentes a 2012 indicam que 51,9% dos diabéticos apresentam HbA1C (hemoglobina glicada)  $<6.5\%$ , e que apenas 25% terão HbA1C  $>8\%$ , estes últimos apresentando maior risco de desenvolver complicações secundárias, quer vasculares (microvasculares: retinopatia, edema da mácula, polineuropatia sensitiva e motora, neuropatia autonómica e nefropatia; macrovasculares: doença coronária, doença arterial periférica e doença cerebrovascular) quer não vasculares (gastrointestinais, genitourológicas, dermatológicas, infecciosas, cataratas, glaucoma doença periodontal, hipoacusia)[4]. Para além destas uma outra complicação pior caracterizada, a osteopatia diabética, constitui um risco aumentado de fracturas e de atraso na sua consolidação. A DM1(Diabetes Mellitus tipo 1) e a DM2(Diabetes Mellitus tipo 2) têm contribuições diferentes na modificação do osso e no risco de fractura. A diabetes é ainda um factor que acresce o risco de desenvolver artropatia de Charcot em articulações de carga.[5]

A Diabetes Gestacional apresenta algumas especificidades. Durante a gravidez e lactação as necessidades de cálcio são acrescidas graças ao desenvolvimento do esqueleto fetal e à produção de leite materno, existindo em modelos animais um aumento da actividade osteoclástica durante este período. Apesar de não existir diminuição da DMO durante a gravidez, numa fase tardia da amamentação existe perda de massa óssea acompanhada de diminuição da DMO, retomando valores normais 1 ano após o desmame. Esta perda é expectavelmente superior em mães previamente diabéticas, ou mesmo na diabetes gestacional, existindo uma DMO vertebral menor do que em mães não diabéticas e uma perda de massa óssea superior ao normal nos 3 meses que seguem o parto em 40% das mães que desenvolveram DG. Algumas mantêm sequelas a longo prazo, com dorsalgias, diminuição da altura e/ou fracturas vertebrais (osteoporose induzida pela gravidez/lactação).[6]

Relativamente à Osteoporose estima-se que afecte em Portugal mais de 500.000 pessoas, com maior prevalência em idosos e mulheres pós-menopausa. É caracterizada por diminuição da massa óssea e deterioração da microarquitECTURA do osso, especialmente o osso trabecular ao nível das vértebras, costelas e cintura pélvica, com aumento do risco de fracturas patológicas que acarreta diminuição da qualidade de vida (dor e incapacidade) e custo económicos e sociais elevados. O diagnóstico é baseado essencialmente na quantificação da densidade mineral óssea (DMO). É considerada Osteoporose uma DMO, medida por DEXA(absorciometria radiológica de dupla energia) da coluna lombar ou do colo do fémur, correspondente a um índice  $T < -2,5$  (2,5 desvios padrões inferior à média de indivíduos jovens e saudáveis do mesmo sexo).[7]

Novas técnicas como TC quantitativo periférico de alta resolução (pQCT) melhoraram a caracterização da geometria, microarquitECTURA e força ósseas. Estas técnicas sugerem que a porosidade aumentada, resultado do défice no osso cortical, será um factor de risco para fractura na DM2, explicando a perda de resistência óssea não detectável pela DMO.[8]

A abordagem da Osteoporose é semelhante em diabéticos e não diabéticos. Depois da reposição dos níveis de vitamina D e cálcio, terapêutica anabólica ou anti-reabsortiva do osso pode ser considerada, e devem ser sempre evitadas as glitazonas em mulheres pós-menopausicas.[9]

As fracturas osteoporóticas mais frequentes são traumatismos de baixa energia localizados no rádio distal, úmero proximal e na anca (as fracturas vertebrais apresentam uma relação fisiopatológica com o traumatismo diferente), sendo a idade um factor de risco independente e ocorrendo mais

**Box 1 | Risk factors for fractures**

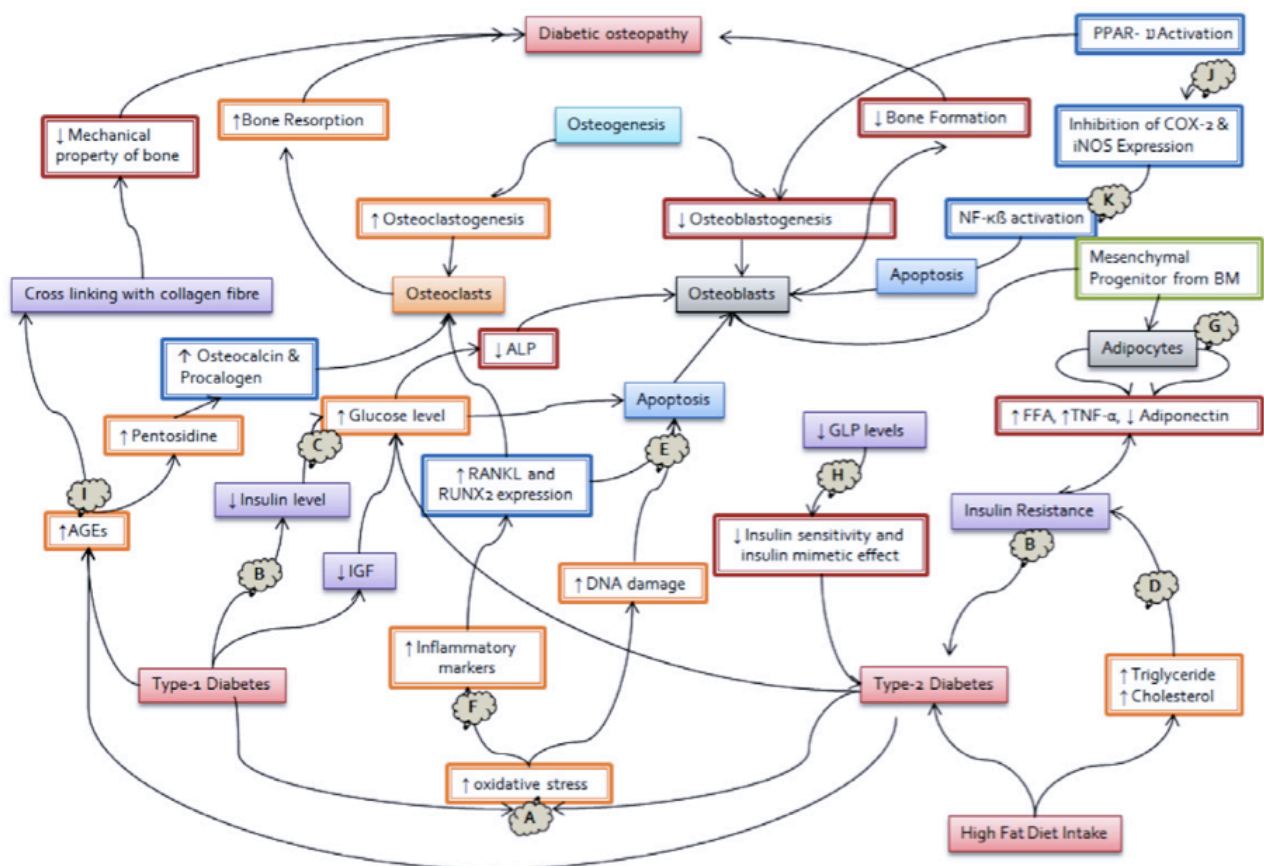
- Diagnosis of T1DM
- Presence of diabetic nephropathy in T1DM and T2DM
- Presence of diabetic neuropathy in T2DM
- High serum levels of pentosidine in T2DM
- Use of glitazones in postmenopausal women with T2DM
- Insulin therapy in T2DM
- Disease duration >10 years in T2DM

Abbreviations: T1DM, type 1 diabetes mellitus, T2DM, type 2 diabetes mellitus.

precoce e frequentemente na mulher. Nos homens com osteoporose terão maior influência causas secundárias como o tratamento prolongado com corticoides, consumo excessivo de álcool, hipogonadismo, baixo aporte de cálcio e consumo tabágico.[10] As fracturas apresentam osteopénia ou DMO normal em alguns casos, possivelmente porque o osso trabecular vertebral possui maior turnover do que o osso cortical periférico[11], podendo cursar com dor lombar e perda de peso por vários meses ou anos, sem que sejam diagnosticadas.[9] Fracturas do pé e tornozelo poderão estar associadas a uma perda óssea localizada, relacionada com a neuropatia diabética, existindo uma incidência aumentada de fractura metatársica em atletas diabéticos.[8]

Em doentes com DM avançada, o risco de queda encontra-se aumentado, resultado da perda de acuidade visual (cataratas, degeneração macular, glaucoma), da doença coronária, insuficiência cardíaca e arritmias, da doença cerebrovascular e da neuropatia (presente em quase 1/3) sensitiva e motora, o que aumenta o risco de fractura numa população idosa, polimedicada e com osteopatia diabética.[12] A insulina, sulfonilureias e glinidas têm maior propensão para desenvolver hipoglicémias, apesar de serem raras as hipoglicémias graves.[13] É no grupo de doentes tratados com insulina que se verificam mais quedas.[14] A deficiência de vitamina D, que afecta até 90% dos diabéticos, pode contribuir para o risco de queda.[15] Será pela hiperglicémia que as EPC (endothelial progenitor cells), envolvidas na angiogénese, serão afectadas. Os seus níveis circulatórios reduzidos serão uma possível causa no atraso do processo de consolidação dos pontos fracturários[6], conferindo a hiperglicémia ainda maior risco de infecção, complicações cardiovasculares perioperatórias e internamentos mais prolongados.[16] Isto ocorre especialmente em fracturas descoladas e naquelas cuja redução foi feita cirurgicamente, com redução interna.[8] A perda de função consequente contribui para um pior controlo glicémico na DM2, pela diminuição da actividade física.

A associação entre estas duas entidades é controversa uma vez que o mecanismo exacto é desconhecido apesar de existirem alterações já identificadas. É difícil perceber se a Osteoporose será uma consequência directa da Diabetes ou se esta ultima agravará a primeira pelas suas comorbilidades. Ambas as patologias são muito prevalentes na população idosa. O prolongamento da esperança média de vida e o estilo de vida sedentário combinado com uma alimentação altamente calórica contribuem para o aumento da incidência destas patologias. A presença de complicações micro e macrovasculares resultado de um mau controlo glicémico, e não de um longo período de doença, é um preditor de baixa DMO na DM1 e na DM2, possivelmente pela diminuição do fluxo também na vascularização óssea e por alterações da função endotelial[17] sendo a retinopatia um bom indicador de doença microvascular diabética.[8, 14] A grande maioria dos estudos refere uma diminuição da DMO na DM1 e um ligeiro aumento ou nenhuma alteração na DM2. Outros referem um aumento da DMO na DM2 mesmo depois de ajustada para o tamanho corporal (que por si só influenciaria a DMO). Potenciais mecanismos são a acumulação de gordura visceral e os níveis aumentados de adiponectina.[15] Contudo, alguns salientam o aumento da DMO apenas em mulheres, explicado pela maior androgenicidade da mulher em condições de hiperinsulinémia e hiperglicémia.[18]





Na DM1 a osteopénia está comprovada e deve-se à reduzida formação óssea logo durante o crescimento, principalmente nos doentes com mal controlados.[18] Doentes DM1 apresentam na generalidade, mas nem sempre, baixo turnover ósseo, com redução da formação óssea (níveis reduzidos de osteocalcina) e em menor grau da reabsorção óssea (marcadores de reabsorção elevados em alguns pacientes), cuja etiologia se pensa ser multifactorial mas possivelmente pela insulinopénia.[8] Algumas comparações indicam que a DM1 afecta negativamente o incremento do pico de massa óssea.[14] Sugere-se que a redução na DMO se deva a incapacidade de formar endóstio durante o crescimento.[8] Desconhece-se até que ponto o processo autoimune, caracterizado por células T activadas e uma associação de citocinas, como a RANKL, estará envolvido na alteração do metabolismo ósseo, mesmo antes de a DM1 ser clinicamente diagnosticada.[14] Muitos estudos referem não existir associação entre a DMO, a duração da DM1 e o controlo glicémico em adultos.[8] Mais ainda, a maioria dos estudos não revela qualquer associação entre a DMO e os valores de hemoglobina glicada.[14]

Na DM2 pensa-se que o aumento da DMO se deva à associação frequente com a obesidade, devido à carga mecânica e factores hormonais, incluindo a insulina, estrogénios e leptina. Apesar deste aparente efeito benéfico continua a existir um risco aumentado de fracturas da anca e de outras fracturas não-traumáticas[19], sendo inclusive maior a severidade das fracturas na DM1.[20] Este aspecto salienta as limitações da DMO como marcador de fragilidade óssea na DM2. A DM1 está associada a um risco 12x superior de sofrer fractura, sendo que na DM2 este é de apenas 1.6x superior à população não diabética, e a probabilidade de fractura da anca é 2,8x superior.[15] Em ambos os casos observa-se uma redução no conteúdo mineral ósseo.[18] Existe o algoritmo FRAX da OMS, entre outras, que permitem avaliar factores de risco parcialmente independentes da DMO, permitindo estimar o risco fracturário a 10 anos e orientar na instituição de terapêutica preventiva em diabéticos de risco. Actualmente a Diabetes não entra como factor de risco. Contudo, apesar do avanço na avaliação da qualidade óssea com técnicas invasivas e não invasivas, ainda não existem marcadores de detecção precoce fidedignos e sensíveis, especialmente para as fracturas vertebrais em doentes DM2 [21, 22], sendo esta limitação uma das possíveis justificações para a falta de intervenção médica. Nestes casos, a concentração de esRAGE(endogenous secretory RAGE) e o rácio esRAGE/pentosidina parece ser mais útil do que a DMO no estabelecimento do risco de fractura.[22]

A DM1 está ainda relacionada à doença celíaca, e a DM2 ao hipogonadismo, ambas com contribuição diferente para o aumento do risco de fractura.[15]

O osso é um tipo especializado de tecido conjuntivo que sofre remodelações microestruturais contínuas e dinâmicas de forma a adaptar-se ao stress mecânico e às necessidades de cálcio durante toda a vida. Para além do colagénio e hidroxiapatite que lhe confere força e dureza, é também um reservatório de cálcio, fósforo, zinco e estrôncio, entre outros minerais. A quantidade e a qualidade do osso envolvem a coordenação de três tipos de células:

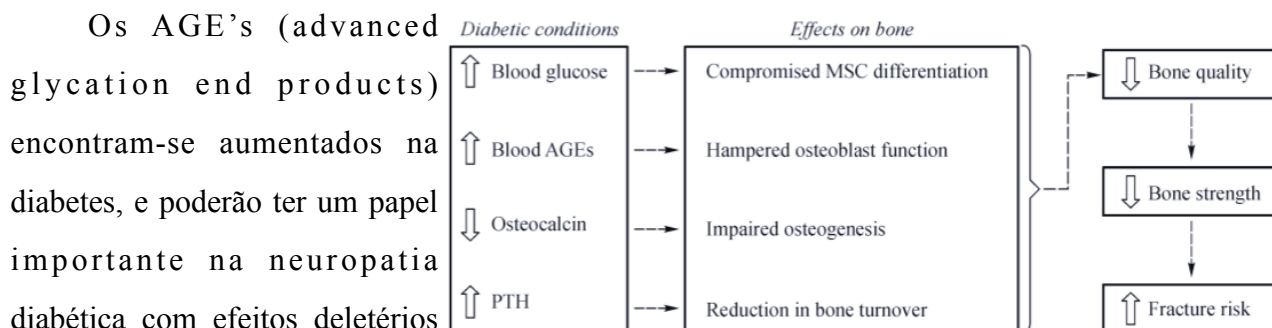
**osteoblastos** - responsáveis pela deposição/formação de matriz óssea, essencialmente ao nível dos locais de absorção. Derivam da linhagem mesenquimal. Marcadores séricos de formação óssea: Fosfatase alcalina total, Fosfatase alcalina óssea-específica, Osteocalcina, Procolagénio tipo-1 (C-terminal/N-terminal) - C1NP ou P1NP respectivamente. [23] A RUNX2 é um factor de transcrição expresso pelos osteoblastos, usado em modelos para avaliar a formação óssea.

**osteócitos** - osteoblastos maduros incapazes de se dividir ou sintetizar matriz óssea, funcionam como sensores mecânicos que detectam alterações no movimento de fluido intracanalicular, sinalizando os osteoblastos através dos processos sinciciais. São as células mais abundantes da matriz óssea, responsáveis também pela nutrição/remoção de produtos do metabolismo via corrente sanguínea.[24]

e **osteoclastos** - respondem ao estímulo dos osteoblastos, contribuindo para a reabsorção óssea em áreas de fragilidade estrutural causado por stress mecânico ou desuso. Derivam da linhagem hematopoiética (monócito/macrófago). A reabsorção óssea não parece estar excessivamente elevada em modelos animais diabéticos, encontrando-se a diferenciação e função osteoclásticas inclusivamente inibidas em diversos estudos.[25] Marcadores urinários de reabsorção óssea: Hidroxiprolina, Piridinolina total (PYD), Telopectido-N do colagénio tipo 1(NTX), C-telopectido do colagénio tipo 1(CTX); e séricos: C-telopectido do colagénio tipo 1(CTX) -  $\beta$  crosslaps, Sialoproteína óssea (BSP), Fosfatase ácida 5b ácido-resistente.[23]

As células mesenquimatosas possuem receptores extra-celulares para diferentes factores de crescimento e hormonas: BMP(bone morphogenic protein), Wnt, TGF- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ ), PTH(hormona paratiroideia), PDGFs(platelet derived growth factors), FGF(fibroblast growth factors), capazes de activar a diferenciação, maturação e sobrevivência dos osteoblastos. Expressam ainda receptores adrenérgicos  $\beta_2$  e glutaminérgicos 5HTR existindo por isso uma ligação aos sistemas simpático, sensorial e glutaminérgico, com maior exposição na placa de crescimento e metáfise dos ossos longos. A sua estimulação é capaz de induzir o recrutamento e proliferação, e a sua ausência conduz a osteopénia.[26]

A secreção aumentada de PTH, verificada na Diabetes, revelou sequestrar a diferenciação e activação osteoblásticas, pela expressão aumentada de inibidores potentes da via da BMP.[27] A Diabetes está ainda associada à expressão aumentada de outros inibidores da via do BMP e do TGF- $\beta$ : DKK-1, Sclerosina, Gremelina, ATII(angiotensina II), IL-6 e TNF's. Também se verifica na Diabetes uma redução dos níveis de vitamina D e neurotransmissores, necessários ao crescimento dos osteoblastos.

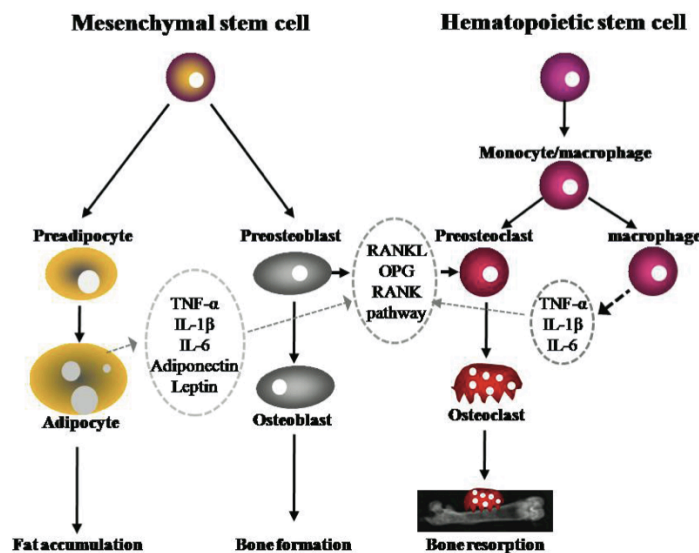


nas células nervosas pela modificação de proteínas neuronais, contribuindo ainda para a expressão aumentada de IL-6. Vários estudos associam os AGE's a uma diminuição da expressão de colagénio tipo 1, servindo como biomarcador do risco de fractura pela sua contribuição para a diminuição da rigidez óssea. A diabetes é ainda responsável pelo aumento da expressão de PPAR- $\gamma$ , aP2 e TNF- $\alpha$ , que desviam a diferenciação das células mesenquimatosas, de osteoblastos para adipócitos.[26]

Os osteoblastos secretam M-CSF(macrophage colony stimulating factor) necessário para a diferenciação dos osteoclastos, e RANKL(receptor activator of nuclear factor-kB ligand) essencial para a sua maturação. Outros mediadores da osteoclastogénese são a OPN(osteopontina), PTH (hormona paratiroideia), M-CSF (macrophage colony stimulating factor) e a ATII (angiotensina II), PTHrp (peptido relacionado com a PTH) e a prolactina.[6, 26] Em situações de inflamação, como a obesidade, poderão estar envolvidos outras vias, como o MCP (monocyte chemoattractant protein), TNF (factor de necrose tumoral) e IL-6 (interleucina-6). A própria neuropatia diabética é causa de aumento de produção de IL-6 e TNF.[26]

Algumas linhas de evidência sugerem que a perda óssea possa em parte ser mediada por uma disfunção no sistema cinina, potencialmente responsável por complicações como a hiperalgesia, cardiomiopatia e retinopatia.[6]

A via da RANKL - RANK - NF- $\kappa$ B assume essencial importância. A RANKL originada nos osteoblastos liga-se ao receptor extra-celular RANK, expresso nas células da linhagem hematopoiética, contribuindo para a diferenciação em osteoclastos e inibindo a apoptose. É também responsável pela produção de ROS (espécies reactivas de oxigénio) potentes indutores da osteoclastogénese. As ROS



(reactive oxygen species) intracelulares potenciam a via RANK-RANKL, encontrando-se elevadas na DM2.[26] O M-CSF actua como catalisador desta via. A afinidade da OPG (osteoprotegerina) pela RANKL permite que esta fique sequestrada, conduzindo a uma redução da via RANK-RANKL com diminuição da multiplicação e sobrevivência dos osteoclastos, logo, da reabsorção óssea. A Diabetes induz uma expressão aumentada de de RANKL, M-CSF, RANK e OPN (osteopontina). Existe actualmente um inibidor da RANKL aprovado desde 2010, o Denosumab.

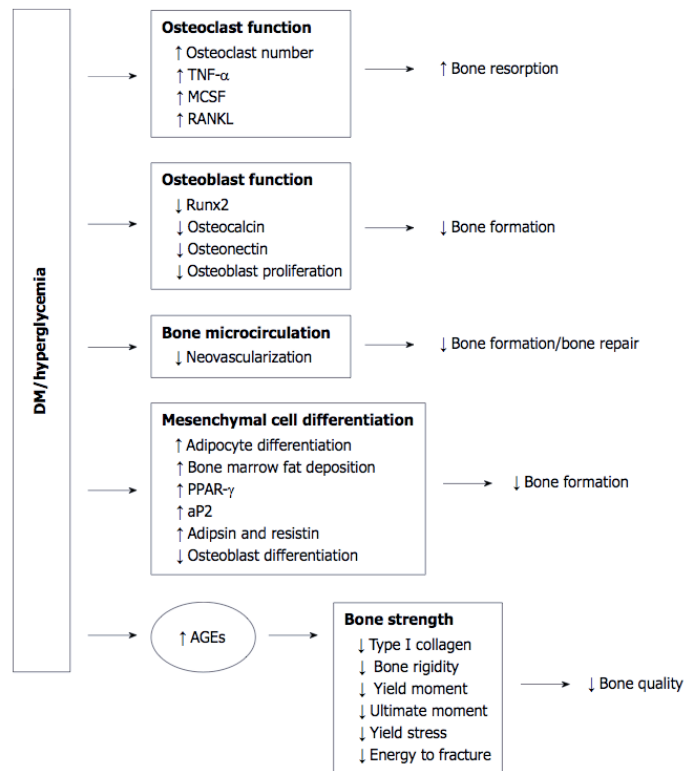
A via das ITAM's (immunoreceptor tyrosine-based activation motifs), pela ligação de IgG ao receptor Fc $\gamma$ R activa a transcrição de genes que ultimamente aumentam a acidificação e degradação da matriz óssea. Pensa-se que a Diabetes seja um potente indutor da IgG, MCP, IL-6 e TNF, importantes para a maturação e activação de osteoclastos.

A **adiponectina** (reduzida na DM), secretada pelo tecido adiposo visceral, subcutâneo e da medula óssea tem influência na regulação da homeostase energética e na sensibilidade à insulina. Os osteoblastos possuem receptores para a adiponectina, sendo que esta estimula a proliferação, diferenciação e mineralização de osteoblastos e inibe a actividade dos osteoclastos e a reabsorção óssea. Existe uma associação entre a adiponectina e a DMO, turnover ósseo e presença de fracturas vertebrais na DM2.[22]

**Estrogéneo:** Relativamente à menopausa, pela cessação das secreções ováricas ocorre défice de estrogéneo, considerado um factor importante para a activação osteoclástica.[18] O estrogéneo bloqueia actividade absorptiva dos osteoclastos, melhora o transporte trans-intestinal de cálcio, aumenta a absorção renal de cálcio e protege os osteoblastos.[28] A deficiência de estrogéneos diminui a produção de OPG e aumenta o TNF- $\alpha$ , o RANKL e os precursores dos osteoclastos.

Mulheres com exposição abaixo da média durante a vida estão portanto em maior risco de desenvolver osteoporose. As perdas pós-menopausa de massa óssea podem atingir 25-30% num espaço de 5-10 anos.[28]

**Hiperglicémia:** afecta as células mesenquimatosas, provocando baixa formação e remodelação ósseas, com diminuição do recrutamento dos osteoblastos. promove a deslocação da linhagem mesenquimal com diminuição da diferenciação em osteoblastos e aumento de adipócitos. A substituição de osteoblastos por lípidos na medula de ossos longos provocará uma diminuição dos osteoblastos disponíveis assim como a expansão da cavidade medular com adelgaçamento do envelope cortical.[6] A hiperglicémia promove ainda um aumento do stress oxidativo pela formação de ERO's



(espécies reactivas de oxigénio) que atenuam a osteoblastogénese. As ERO provocam dano no ADN, proteínas e lípidos, podendo causar redução da proliferação celular, apoptose, interrupção do ciclo, ou modular a sua diferenciação, com níveis urinários de 8-hidroxiguanosina (marcador de dano no ADN) elevados em doentes diabéticos.[29] Os AGE (advanced glycation end products) como a pentosidina, poderão também contribuir para a degradação das propriedades mecânicas do osso (especialmente no osso cortical), encontrando-se os seus níveis urinários correlacionados com o risco de fractura em adultos com DM2. [30, 31] O aumento da concentração de pentosidina com o envelhecimento diminui a DMO e aumenta o risco de fractura[32] Conferem rigidez na rede de colagéneo articular, o que compromete a capacidade de resistência ao dano. Esta glicosilação não enzimática está portanto acelerada em situação de hiperglicémia, como ocorre com a HbA1c e com outras proteínas, e poderá alterar a força da matriz óssea pela glicosilação do colagéneo, não reflectida na DMO, com redução das ligações cruzadas no colagéneo, redução da mineralização do osso e da sua competência biomecânica. Também estará envolvida no desenvolvimento de aterosclerose e da microangiopatia diabética. Os AGE's, pela interacção com o seu receptor

(RAGE) activam ainda a via do NF-kB com um possível contributo para o desenvolvimento de osteoporose.[17]

A hiperglicémia prejudica a produção de osteocalcina pelos osteoblastos, que apresenta níveis diminuídos em doentes diabéticos. [33]

A longo prazo a hiperglicémia terá contributo na predisposição para quedas, pelas suas complicações micro e macro vasculares

**Metabolismo Mineral:** existe deficiência de cálcio, fósforo e magnésio resultado do mau controlo glicémico, hiperinsulinémia e complicações crónicas. A hiperglicémia leva a perda de conteúdo mineral ósseo, com balanço de cálcio negativo, agravado ainda pela perda urinária de cálcio - hipercalcúria. Na diabetes os níveis de fosfatase alcalina, responsável pela mineralização óssea e produção de proteínas da matriz, estão também diminuídos.[33]

A concentração sanguínea de alguns metais está também alterada na diabetes, associada a níveis reduzidos de crómio, manganésio, níquel, chumbo e zinco, podendo a suplementação de crómio ser benéfica pela redução da peroxidação lipídica, do stress oxidativo e da hiperglicémia. Também a suplementação de zinco poderá melhorar o controlo glicémico, ter efeitos insulínomiméticos e prevenir de danos oxidativos. Relativamente aos valores diminuídos de níquel e chumbo, parecem ter efeito protector quando em níveis não tóxicos, com protecção face às complicações diabéticas (chumbo) e à intolerância à glicose (níquel).[34]

**Vitamina D:** Determinante na homeostase do cálcio e fósforo, e na mineralização do osso, possui ainda papel na função neuromuscular e nas quedas. Existe um aumento na evidência para que esteja também associada à promoção da hipertensão, alteração da função endotelial, à doença cardiovascular e à resistência à insulina pela modulação imunitária (o seu défice promoverá aumento de citocinas inflamatórias).[15] Poderá ter efeito positivo na secreção de insulina (o seu défice associa-se a secreção alterada de insulina na presença de glicose), na sensibilidade periférica para a insulina (estimula a expressão dos receptores de insulina e regula os níveis cálcio, essencial nos processos intracelulares mediados pela insulina) e pela modulação da síntese e efeitos das citocinas [3] Níveis séricos de 25-hidroxivitamina D3 abaixo de 62.5nmol/L estão associados a aumento do risco de fractura da anca em homens e mulheres acima dos 65 anos.[35] Cerca de metade da população americana activa parece apresentar défice de vitamina D (25-OHD < 25ng/ml). Existe uma relação inversa entre o aporte de Vit.D e concentração de 25-OHD, e a prevalência de síndrome metabólica. Doentes com DM2/intolerância à glicose apresentam níveis séricos de 25-

OHD diminuídos quando comparados com não diabéticos. Existe uma associação significativa entre o aporte de vitamina D e o risco de DM2. Apesar de tudo isto a relação entre os níveis séricos de 25-OHD e a glicémia/presença de DM2 não são consistentes. Os dados sugerem que a suplementação de vitamina D precocemente no desenvolvimento da doença poderá atrasar o estabelecimento de DM2.[3]

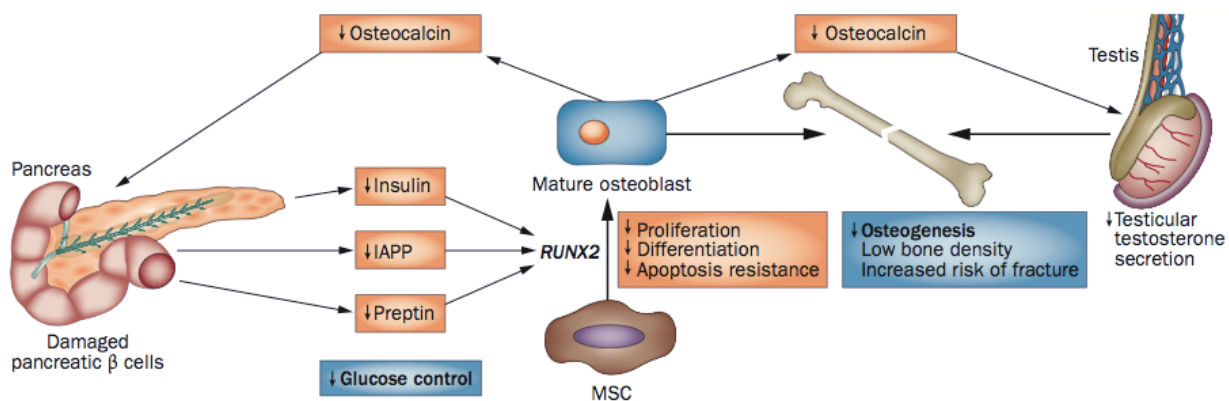
**Cálcio:** A secreção de insulina na célula  $\beta$  é um processo cálcio dependente. Os doentes diabéticos são doentes que apresentam menor aporte de cálcio, que está também inversamente associado à prevalência do síndrome metabólico. Contudo, a contribuição do cálcio da dieta não podem ser isolada da de outros componentes dos laticínios. Há alguma evidência para que a suplementação de cálcio(1200mg/d) e vitamina D(400-600IU/d) tenha algum papel na prevenção da DM2, especialmente em populações de risco, não sendo o mesmo verdade para a suplementação isolada de vitamina D.[3] Dietas ricas em gorduras interferem com a absorção intestinal de cálcio. [36] A hipercalciúria, cujo mecanismo não está totalmente compreendido, pode ser atenuada com insulina. Quer a perda mineral óssea, quer o hipoparatiroidismo funcional poderão ter um papel na hipercalciúria. [8]

**IMC:** Um factor que dificulta os achados na alteração da DMO é o IMC (Índice de Massa Corporal), assim como alguns factores hereditários, hábitos alimentares, altura e a massa magra. Um baixo IMC associa-se a uma diminuição da DMO, risco de osteoporose e fractura, fazendo acreditar que o excesso de peso e a obesidade são factores protectores da DMO.[18] A obesidade está associada à resistência à insulina, existindo ainda uma associação entre a hipercolesterolemia e a osteoporose, possivelmente pela partilha da linhagem mesenquimal entre os osteoblastos e os adipócitos.[33] A obesidade ( $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ), associada a DM2, está associada a um aumento dos níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-6, PCR, leptina) com correlação positiva face ao grau de adiposidade, e redução de anti-inflamatórias (adiponectina). Estas alterações são capazes de estimular a activação osteoclástica pela via da RANKL/RANK/OPG, anulando os potenciais efeitos positivos (redução da apoptose e aumento da proliferação e diferenciação de osteoblastos e osteócitos pela via da Wnt/ $\beta$ -catenina, com inibição da adipogénese pela diminuição do PPAR $\gamma$ ) que a carga mecânica oferece ao osso. Os estudos são controversos pelo facto de nos doentes obesos existir também um consumo excessivo de nutrientes que influenciam o metabolismo ósseo, mas acredita-se que o resultado final seja a diminuição da DMO e do conteúdo mineral ósseo total. [36]

**Osteocalcina(OC):** a activação dos receptores de insulina nos osteoblastos promovem a secreção de osteocalcina, que na célula B impele a proliferação, secreção de insulina, e leva ainda ao aumento da sensibilidade à insulina e do dispêndio energético.[37] É portanto uma hormona importante para o metabolismo da glicose e da massa gorda, alvo de investigação pelo seu potencial terapêutico.[38] Crê-se que a osteocalcina influencie ainda a produção de testosterona, que se sabe ser importante para o crescimento e remodelação ósseas.[39] Sabe-se que a perda óssea acelera depois dos 70anos, e a perda rápida é mais comum se existirem níveis baixos de testosterona.[40] A hiperglicémia prejudica a expressão e secreção osteoblástica da OC, que retoma valores séricos normais após tratamento, [22]

Na DM1 a carência de factores anabólicos para o osso traduz-se em menor formação óssea, havendo menos produção de osteocalcina.

Na DM2 parece existir uma relação inversa entre os níveis de osteocalcina e a concentração plasmática de glicose e a massa gorda.[41, 42] A redução do rácio OC/FAO (fosfatase alcalina óssea) é preditora de risco de fractura vertebral em homens com DM2, conferindo-lhe um potencial de biomarcador ou mesmo um alvo terapêutico.[43]



**Insulina.** Foi posta a hipótese de a insulina possuir um papel anabólico (em sinergismo com o IGF-1[44]) potente nos osteoblastos para tentar explicar a perda de massa óssea na DM1, com a hiperinsulinémia da DM2 sendo responsável pelo aumento de DMO. Facto é que o tratamento da DM1 conduz a melhoria significativa da DMO e ao aumento dos marcadores de formação óssea. [45] Contudo, a perda de sensibilidade para a insulina na DM2 provocada pela hiperinsulinémia deverá também ocorrer nas células ósseas, o que não explica totalmente a hipótese da insulinopénia da DM1 uma vez que a resistência à insulina também suprimiria os seus efeitos anabólicos na DM2. Propôs-se que seria a **amilina e a preptina**, secretadas na células β do pâncreas, que contribuiriam para este efeito na DMO, uma vez que na DM1 tal como a insulina, também está ausente. [9, 14] Há ainda a hipótese de existir simultaneamente resistência metabólica à insulina mas não ao nível da sua acção no esqueleto.



**Hormonas digestivas:** A GLP-1 (glucagon like peptide-1), secretada nas células L do intestino em resposta à ingestão de glicose, promove a secreção de insulina na célula  $\beta$  pancreática, suprime a libertação de glucagon na célula  $\alpha$ , e nos adipócitos promove a lipólise. Ao nível da tiróide a GLP-1 estimula a libertação de calcitonina, que por sua vez suprime a reabsorção óssea. [46] Possui efeitos directos na formação óssea através de alterações genéticas osteoblásticas, e ainda pela inibição osteoclástica ao alterar o rácio OPG/RANKL nos osteoblastos. Será por esta via dependente de calcitonina que os inibidores da DPP-4 (“gliptinas”) poderão ser protectores da massa óssea. [47] O GLP2 (glucagon like peptide 2) e o GIP (peptido inibitório gástrico) pancreáticos parecem possuir potentes efeitos osteotrópicos, o GLP2 com diminuição da reabsorção óssea e o GIP sendo responsável por um aumento da expressão de fosfatase alcalina e secreção de colagénio tipo I. [14]

**PTH:** a hiperglicémia reduz significativamente os níveis de PTH. [48] Ambos parecem contribuir independentemente para uma menor remodelação óssea, conferindo menor qualidade ao osso. [49] Para além disto também a sensibilidade à PTH parece estar reduzida no osso adinâmico de indivíduos diabéticos, onde a expressão de receptores de PTH/PTHrP foi de 1/3 comparativamente ao osso saudável. [50]

**Rim:** a hiperglicémia com glicosúria só por si tem efeitos calciúricos a nível renal. [51] Também a subida da tensão arterial é proporcionalmente acompanhada de perdas renais de cálcio. Estudos antigos indicam que estas perdas não levam à subida da PTH, como seria de esperar. Uma complicação tardia da diabetes, a nefropatia diabética, conduz a hipocalcémia, hiperfosfatémia, hiperparatiroidismo secundário e osteodistrofia urémica nos casos mais graves. [17]

Existe uma grande variedade de anti-diabéticos, alguns favoráveis à osteogénese através de efeitos directos nos osteoblastos ou nas células mesenquimatosas, ao mesmo tempo que reduzem a adipogénese.

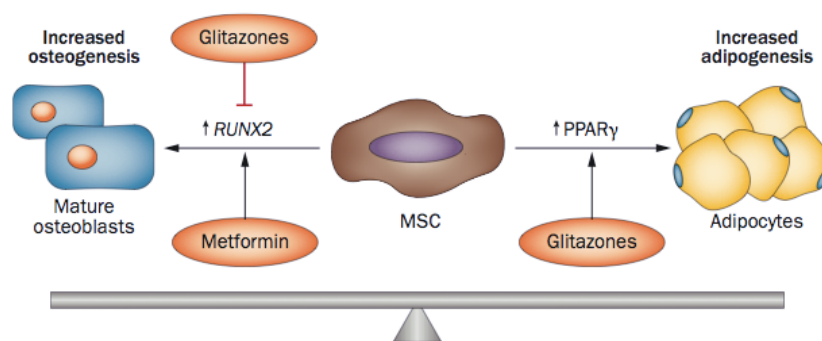
Em modelos animais, a **metformina** mostrou ter efeitos positivos na diferenciação e função osteoblástica, com aumento dos níveis de Runx2, osteocalcina e da actividade da fosfatase alcalina, síntese de colagénio tipo 1 e adição de cálcio no osso. O **glimepiride** também demonstrou estimular a diferenciação e proliferação osteoblásticas. Alguns extractos de plantas, como a canela, mostraram também possuir efeitos antihiperlipidémicos e antihiperlipidémicos.[6]

O atenuar da microangiopatia e a restauração da microcirculação óssea poderão ser efeitos adicionais da insulina e alguns anti-diabéticos. A injeção em modelos animais de células mesenquimatosas tratadas com extractos pancreáticos normalizou a glicémia, preveniu a apoptose de células das ilhotas, e elevou a produção de factores antiapoptóticos e angiogénicos (VEGF, IGF-1 e bFGF - basic fibroblast growth factor). Outros estudos mostram que a injeção de células mesenquimatosas tratadas com EGF aumentou a angiogénese em 90%. No fundo é possível que antidiabéticos com actividade angiogénica possam ser usados para aumentar a circulação nos locais de fractura, acelerando a consolidação e possivelmente prevenindo a osteopénia/osteoporose. Algumas drogas, como a **pentoxifilina** poderão ser promissoras como antiosteoporóticas em doentes com DM, por aumentarem a circulação sanguínea e a actividade osteoblástica. O exercício físico/ actividade física (em especial o treino da resistência) é uma intervenção não medicamentosa com expectáveis efeitos indirectos positivos face à microangiopatia, pela neovascularização e melhoria da circulação sanguínea mediadas pelo aumento de EPC's em circulação.[6]

**Insulina:** pensa-se ser um factor anabólico do osso. Em células humanas experimentais é indutora directa da acção osteogénica por aumentar a proliferação e diferenciação celulares, a actividade da fosfatase alcalina e a expressão de colagénio tipo 1 e osteocalcina. Juntamente com a IGF-1, aumenta a mineralização da matriz.[6] O seu défice, observado na DM1, parece afectar a função dos osteoblastos, com redução dos marcadores séricos de formação óssea (procolagénio tipo I, fosfatase alcalina, osteocalcina).[52] Pelo contrário, insulino-terapia intensiva na DM1 parece trazer efeitos ósseos positivos.[45] Também a hiperinsulinémia na DM2 poderá explicar a DMO aumentada em alguns doentes.

**Metformina:** tem efeito benéfico na formação/qualidade do osso pela estimulação da diferenciação dos osteoblastos e pela protecção que lhes confere face à hiperglicémia. Estimula a diferenciação dos osteoblastos pela transactivação da Runx2.[53] Existe um incremento nos marcadores de formação óssea (FA, colagéneo tipo 1, osteocalcina) e deposição extracelular de cálcio das células progenitoras da medula óssea. A informação transcrita de modelos celulares e animais sugere que estarão envolvidas a supressão da via da Wnt/B-catenina que favorece a diferenciação celular, a inibição da PPAR $\gamma$ , a redução da RANKL, a estimulação da expressão de OPG nos osteoblastos, e a inibição da diferenciação dos osteoclastos, com diminuição do seu número.[30]

Pode provocar deficiência de vitamina B12, potencial mecanismo para instabilidade postural.



**Tiazolidinedionas (glitazonas):** agonistas do PPAR $\gamma$  estão associados a um risco aumentado de fractura por diminuírem a DMO, especialmente a rosiglitazona em mulheres pós-menopausa, mesmo se usada por poucos meses.[54] O seu uso em homens é menos conclusivo. O estudo ADOPT (A Diabetes Outcome Progression Trial) foi pioneiro ao reportar aumento do risco de fracturas periféricas em mulheres com a Rosiglitazona. As TZDs actuam influenciando a diferenciação das células estaminais da linhagem mesenquimal em adipócitos, ao invés de osteoblastos. Também exercerão efeitos na diferenciação dos osteoclastos e reabsorção óssea. A Rosiglitazona parece diminuir os níveis séricos dos marcadores de formação óssea (PINP e FA) em homens e mulheres, enquanto o marcadores urinário de reabsorção (CTX-1) apresenta um aumento de 6,1% nas mulheres, mas não nos homens, concluindo-se que a diminuição da formação e o aumento da reabsorção serão dois importantes mecanismos pelos quais as TZDs exercerão os seus efeitos deletérios sobre o osso.[55] Foi proposto que ao mesmo tempo que elevam a expressão de RANKL para a actividade osteoclástica estas drogas também diminuiriam os níveis de TGF- $\beta$  e IGF-1.[33] Outros mecanismos possíveis serão a promoção da apoptose dos osteócitos, ou a regulação indirecta do metabolismo ósseo através do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas.

As TZD têm outros riscos associados, como enfarte miocárdio, retenção de fluidos, insuficiência cardíaca e anemia.

São poucos os estudos que se referem especificamente ao tratamento da osteoporose em doentes diabéticos. No Fracture Intervention Trial, o tratamento a 3 anos com alendronato mostrou melhoria semelhante em doentes pós-menopausicas diabéticas e não diabéticas. Outros estudos revelam não existir também diferença na prevenção de fracturas em homens e mulheres, diabéticos (DM1 e DM2) e não diabéticos, submetidos a tratamento com bifosfonatos ou com raloxifeno.[8]

Não existindo normas de orientação específicas para estes doentes, devem ser seguidas as normas já existentes, como as usadas em mulheres pós-menopausicas. As recomendações de um estilo de vida saudável, prática de exercício físico e suplementação de cálcio e vitamina D aplicam-se também a doentes diabéticos.

## DISCUSSÃO

Como a diabetes engloba diversas alterações metabólicas torna-se um desafio perceber qual a consequência directa de cada uma dessas mudanças na fisiopatologia da osteoporose. Por isso, isolar outros factores que de alguma forma possam influenciar o metabolismo ósseo e adulterar os resultados torna-se um desafio. Alguns desses são: IMC, consumo tabágico, consumo álcool, consumo de cafeína, consumo diário de cálcio, drogas (corticoides, metabolitos da vitamina D, calcitonina, bifosfonatos, hormona tiroideia, tiazolidinedionas, heparina, varfarina, vitamina K, tiazidas, anticonvulsivantes), doenças que afectem o osso e o metabolismo do cálcio, doenças que alterem a nutrição, insuficiência renal, ou causas de osteoporose secundária (osteogénese imperfeita, doença hepática crónica, malnutrição/malabsorção crónica, hipogonadismo, menopausa prematura, hipertiroidismo, etc.).

Mesmo quando identificadas algumas associações em modelos animais e culturas celulares existe pouca evidência na aplicação das mesmas teorias em humanos, pelo que é necessária mais investigação nesta área.

O facto de para as fracturas também contribuir o risco de queda aumentado na diabetes é um impasse na atribuição de causa-efeito entre a diabetes e as fracturas osteoporóticas..

Biomarcadores de qualidade óssea para detecção precoce de doenças ósseas continuam a faltar na prática clínica, uma vez que a DMO continua a ser insuficiente na prevenção de fracturas e identificação de casos de risco.

Um plano de prevenção que passe por correcção de hábitos alimentares, exercício físico moderado regular, e uma intervenção farmacológica em doentes de alto-risco trará muito possivelmente resultados benéficos.

## Bibliografia

1. SociedadePortuguesadeDiabetes, *Diabetes: Factos e Números 2013*, in *Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes*. 2013.
2. Nathan, D.M., et al., *Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: implications for care*. Diabetes Care, 2007. **30**(3): p. 753-9.
3. Pittas, A.G., et al., *The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis*. J Clin Endocrinol Metab, 2007. **92**(6): p. 2017-29.
4. Longo, D.L., et al., *Harrison's principles of internal medicine*. 18 ed. 2011, New York: McGraw-Hill.
5. Jeffcoate, W., J. Lima, and L. Nobrega, *The Charcot foot*. Diabet Med, 2000. **17**(4): p. 253-8.
6. Wongdee, K. and N. Charoenphandhu, *Osteoporosis in diabetes mellitus: Possible cellular and molecular mechanisms*. World J Diabetes, 2011. **2**(3): p. 41-8.
7. SociedadePortuguesadeReumatologia and SociedadePortuguesadeDoençasMetabólicas, *Recomendações para o diagnóstico e terapêutica da Osteoporose*. 2007.
8. Hordon, L., *Bone disease in diabetes mellitus*. 2013: www.uptodate.com. p. 8.
9. Hamann, C., et al., *Bone, sweet bone--osteoporotic fractures in diabetes mellitus*. Nat Rev Endocrinol, 2012. **8**(5): p. 297-305.
10. Ebeling, P.R., *Clinical practice. Osteoporosis in men*. N Engl J Med, 2008. **358**(14): p. 1474-82.
11. Nordin, B.E., *Redefining osteoporosis*. Calcif Tissue Int, 2008. **83**(6): p. 365-7.
12. Vestergaard, P., L. Rejnmark, and L. Mosekilde, *Diabetes and its complications and their relationship with risk of fractures in type 1 and 2 diabetes*. Calcif Tissue Int, 2009. **84**(1): p. 45-55.
13. Direção-GeraldaSaúde, *Abordagem Terapêutica Farmacológica na Diabetes Mellitus tipo 2*, D.d.Q.n. Saúde, Editor. 2013, DGS: Lisboa. p. 17.
14. Hofbauer, L.C., et al., *Osteoporosis in patients with diabetes mellitus*. J Bone Miner Res, 2007. **22**(9): p. 1317-28.
15. Mayne, D., N.R. Stout, and T.J. Aspray, *Diabetes, falls and fractures*. Age Ageing, 2010. **39**(5): p. 522-5.
16. Retzepi, M. and N. Donos, *The effect of diabetes mellitus on osseous healing*. Clin Oral Implants Res, 2010. **21**(7): p. 673-81.
17. Vestergaard, P., *Bone metabolism in type 2 diabetes and role of thiazolidinediones*. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2009. **16**(2): p. 125-31.
18. Abdulameer, S.A., et al., *Osteoporosis and type 2 diabetes mellitus: what do we know, and what we can do?* Patient Prefer Adherence, 2012. **6**: p. 435-48.
19. Janghorbani, M., et al., *Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture*. AM J Epidemiol, 2007. **166**.
20. Nicodemus, K.K., A.R. Folsom, and S. Iowa Women's Health, *Type 1 and type 2 diabetes and incident hip fractures in postmenopausal women*. Diabetes Care, 2001. **24**(7): p. 1192-7.
21. Donnelly, E., *Methods for assessing bone quality: a review*. Clin Orthop Relat Res, 2011. **469**(8): p. 2128-38.
22. Yamaguchi, T. and T. Sugimoto, *Bone metabolism and fracture risk in type 2 diabetes mellitus*. Bonekey Rep, 2012. **1**: p. 36.
23. Sonia A Talwar, M. *Bone Markers in Osteoporosis* 2012; Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/128567-overview>.
24. Clarke, B., *Normal bone anatomy and physiology*. Clin J Am Soc Nephrol, 2008. **3 Suppl 3**: p. S131-9.
25. Kasahara, T., et al., *Malfunction of bone marrow-derived osteoclasts and the delay of bone fracture healing in diabetic mice*. Bone, 2010. **47**(3): p. 617-25.
26. Roy, B., *Biomolecular basis of the role of diabetes mellitus in osteoporosis and bone fractures*. World J Diabetes, 2013. **4**(4): p. 101-13.
27. Chen, G., C. Deng, and Y.P. Li, *TGF-beta and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation*. Int J Biol Sci, 2012. **8**(2): p. 272-88.

28. Karimifar, M., et al., *Evaluation of bone loss in diabetic postmenopausal women*. J Res Med Sci, 2012. **17**(11): p. 1033-8.
29. Hamada, Y., H. Fujii, and M. Fukagawa, *Role of oxidative stress in diabetic bone disorder*. Bone, 2009. **45 Suppl 1**: p. S35-8.
30. Yan, W. and X. Li, *Impact of diabetes and its treatments on skeletal diseases*. Front Med, 2013. **7**(1): p. 81-90.
31. Sanguineti, R., et al., *Pentosidine effects on human osteoblasts in vitro*. Ann N Y Acad Sci, 2008. **1126**: p. 166-72.
32. Ji, J.D., et al., *Advanced glycation end-products (AGEs): a novel therapeutic target for osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis*. Med Hypotheses, 2009. **73**(2): p. 201-2.
33. Rahigude, A.B., S.V. Kaulaskar, and P.S. Bhutada, *Possible therapeutic potential of berberine in diabetic osteopathy*. Med Hypotheses, 2012. **79**(4): p. 440-4.
34. Forte, G., et al., *Blood metals concentration in type 1 and type 2 diabetics*. Biol Trace Elem Res, 2013. **156**(1-3): p. 79-90.
35. Chen, H.L., L.L. Deng, and J.F. Li, *Prevalence of Osteoporosis and Its Associated Factors among Older Men with Type 2 Diabetes*. Int J Endocrinol, 2013. **2013**: p. 285729.
36. Cao, J.J., *Effects of obesity on bone metabolism*. J Orthop Surg Res, 2011. **6**: p. 30.
37. Lee, N.K. and G. Karsenty, *Reciprocal regulation of bone and energy metabolism*. J Musculoskelet Neuronal Interact, 2008. **8**(4): p. 351.
38. Ferron, M., et al., *Osteocalcin differentially regulates beta cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(13): p. 5266-70.
39. Karsenty, G., *The mutual dependence between bone and gonads*. J Endocrinol, 2012. **213**(2): p. 107-14.
40. Fink, H.A., et al., *Association of testosterone and estradiol deficiency with osteoporosis and rapid bone loss in older men*. J Clin Endocrinol Metab, 2006. **91**(10): p. 3908-15.
41. Movahed, A., et al., *Reduced serum osteocalcin concentrations are associated with type 2 diabetes mellitus and the metabolic syndrome components in postmenopausal women: the crosstalk between bone and energy metabolism*. J Bone Miner Metab, 2012. **30**(6): p. 683-91.
42. Kanazawa, I., et al., *Serum undercarboxylated osteocalcin was inversely associated with plasma glucose level and fat mass in type 2 diabetes mellitus*. Osteoporos Int, 2011. **22**(1): p. 187-94.
43. Kanazawa, I., et al., *Serum osteocalcin/bone-specific alkaline phosphatase ratio is a predictor for the presence of vertebral fractures in men with type 2 diabetes*. Calcif Tissue Int, 2009. **85**(3): p. 228-34.
44. Thrailkill, K.M., et al., *Is insulin an anabolic agent in bone? Dissecting the diabetic bone for clues*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2005. **289**(5): p. E735-45.
45. Campos Pastor, M.M., et al., *Intensive insulin therapy and bone mineral density in type 1 diabetes mellitus: a prospective study*. Osteoporos Int, 2000. **11**(5): p. 455-9.
46. Garcia-Martin, A., et al., *Diabetes and osteoporosis: action of gastrointestinal hormones on the bone*. Rev Clin Esp, 2013. **213**(6): p. 293-7.
47. Nuche-Berenguer, B., et al., *GLP-1 and exendin-4 can reverse hyperlipidic-related osteopenia*. J Endocrinol, 2011. **209**(2): p. 203-10.
48. Polymeris, A.D., et al., *Effect of an oral glucose load on PTH, 25OHD3, calcium, and phosphorus homeostasis in postmenopausal women*. Endocr Res, 2011. **36**(2): p. 45-52.
49. Dobnig, H., et al., *Type 2 diabetes mellitus in nursing home patients: effects on bone turnover, bone mass, and fracture risk*. J Clin Endocrinol Metab, 2006. **91**(9): p. 3355-63.
50. Picton, M.L., et al., *Down-regulation of human osteoblast PTH/PTHrP receptor mRNA in end-stage renal failure*. Kidney Int, 2000. **58**(4): p. 1440-9.
51. Nagasaka, S., et al., *Effect of glycemic control on calcium and phosphorus handling and parathyroid hormone level in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus*. Endocr J, 1995. **42**(3): p. 377-83.
52. Bouillon, R., et al., *Influence of age, sex, and insulin on osteoblast function: osteoblast dysfunction in diabetes mellitus*. J Clin Endocrinol Metab, 1995. **80**(4): p. 1194-202.

53. Jang, W.G., et al., *Metformin induces osteoblast differentiation via orphan nuclear receptor SHP-mediated transactivation of Runx2*. Bone, 2011. **48**(4): p. 885-93.
54. Grey, A., et al., *The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone decreases bone formation and bone mineral density in healthy postmenopausal women: a randomized, controlled trial*. J Clin Endocrinol Metab, 2007. **92**(4): p. 1305-10.
55. Zinman, B., et al., *Effect of rosiglitazone, metformin, and glyburide on bone biomarkers in patients with type 2 diabetes*. J Clin Endocrinol Metab, 2010. **95**(1): p. 134-42.